

**A HIPOFÍZIS ADENILÁT CIKLÁZ-AKTIVÁLÓ
POLIPEPTID (PACAP) SZEREPE A
TRIGEMINOVASCULARIS RENDSZERBEN:
PREKLINIKAI ÉS KLINIKAI EREDMÉNYEK**

PhD értekezés összefoglaló

Tuka Bernadett

Témavezető: Dr. Tajti János, PhD



Szegedi Tudományegyetem
Természettudományi és Informatikai Kar
Biológia Doktori Iskola és
Általános Orvostudományi Kar Neurológiai Klinika

2014

Szeged

I. TARTALOM

II. BEVEZETÉS	4
III. CÉLOK	6
IV. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK	7
V. EREDMÉNYEK	11
VI. MEGBESZÉLÉS	15
VII. KÖVETKEZTETÉS	16
VIII. KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS	18
IX. IRODALOMJEGYZÉK	19
X. SCIENTOMETRIAI ADATOK	21

II. BEVEZETÉS

Munkánk célja a hipofízis adenilát cikláz-aktiváló polipeptid szerepének vizsgálata az aktivált trigeminovascularis rendszerben (TR), a migrén pathomechanizmusában. Eredményeink hozzájárulhatnak a fejfájás betegségek folyamatainak részletesebb megismeréséhez és új terápiás megoldások kidolgozásához.

A. Migrén

A migrén egy gyakori, rohamokban jelentkező primer fejfájás típus, mely jelentősen rontja a betegek életminőségét. Jellemzői a féloldali, közepes/erős, lüktető fejfájás, mely fizikai aktivitásra súlyosbodik, valamint a rohamok idején számos kísérőtünet (pl. hányinger, fény-, hangérzékenység). A betegség előfordulása a 20-40 éves nőknél gyakori. A hazai populáció közel 12%-a szenved migréntől, de a betegség genetikai háttere még nem tisztázott. Emellett a megelőző és a rohamterápia sem nyújt megfelelő megoldást minden páciensnek [1].

A migrén egy komplex, neurovascularis kórkép, melynek pathomechanizmusát régóta kutatják. A pontos oka, kórfolyamata nem ismert. Azonban a TR aktivációja [2], valamint különböző neuropeptidek és neuroaktív molekulák (kalcitonin gén-rokon peptid (CGRP); P-anyag; vazóaktív intesztinális peptid; nitrogén monoxid; Ca^{2+} /kalmodulin-függő kináz II; szerotonin) felszabadulása bizonyított. A hipofízis adenilát cikláz-aktiváló polipeptidről (PACAP) ismert, hogy többek között jelen van a trigeminalis ganglion neuronjaiban és perivascularis idegvégződéseiben [3]. Ezáltal felmerül a kérdés, hogy a migrénes fejfájások kialakulását hogyan szabályozza a PACAP [4].

B. Hipofízis adenilát cikláz-aktiváló polipeptid =PACAP

A PACAP, mint "brain-gut peptide", a VIP/secretin/glucagon/GHRH szupercsalád tagja. Először 1989-ben Arimura munkacsoportja izolálta juh hypothalamusból, melynek során kiderült, hogy serkenti az adenilát-cikláz működését. Génje a 18 kromoszóma rövid karján lokalizálódik. A peptid széles körben előfordul az emberi szervezetben, így számos funkcióval rendelkezik [5-8]: hypophysiotróp hormon, neurotranszmitter, neuroprotektív/apoptotikus hatású, és szerepe van a kardiovaszkuláris-, gasztrointesztinális- és neuro-immun-endokrin folyamatokban [9, 10]. A PACAP 2 biológiailag aktív formában fordul elő: a PACAP-27 és a humán szempontból jelentősebb 38 aminosavas alak, a PACAP-38. A peptid G-fehérje kapcsolt receptorokon keresztül fejti ki hatását: VPAC₁, VPAC₂, valamint specifikus targete a PAC₁ [11].

A PACAP-38 vazodilatatív hatását [12], a nociceptív/szenzitizációs és neurogén gyulladás folyamataiban betöltött integrátor szerepét számos vizsgálat igazolja [13, 14]. Jelen van a TRG elsődleges érző neuronjaiban [15], a paraszimpatikus ganglion (ggl.) oticumban és ggl. sphenopalatinumban [16]. Továbbá megtalálható a humán TNC agytörzsi és gerincvelői szakaszának sejttestjeiben és idegrostjaiban is, mely arra utal, hogy a PACAP szoros kapcsolatban áll a TR-rel [5]. Ezt egy klinikai tanulmány is megerősítette: a PACAP-38 intravénás adása egészséges egyéneknél fejfájást okozott, míg aura nélküli migrénes betegekben migrénre jellemző rohamokat indukált [17]. Tehát a PACAP fontos mediátora lehet a TR aktivációs mechanizmusainak, azonban a migrénnel kapcsolatos endogén változásairól, jelenleg nem állnak rendelkezésre adatok.

III. CÉLOK

A tanulmány célja, hogy feltérképezze a PACAP koncentráció-változásait a vérplazmában és a trigeminalis rendszer különböző struktúráiban, az aktivált TR állatkísérletes modelljeiben és migrénes betegek vérmintáiban.

1) Preklinikai állatkísérletekben a TR-t stimuláltuk:

- kémiai módon (NTG-injekció)
- elektromosan (TRG ingerlés).

Az aktiváció kialakítását követően meghatároztuk a PACAP-27-és PACAP-38-szerű immunoreaktivitást (IR) az idő függvényében:

- a liquorban (CSF),
- a vénás vérplazmában,
- a TRG-kben,
- az agytörzsi másodlagos érző neuronok területén (caudalis trigeminalis magcsoport, TNC)
- és a felsőbb nyaki gerincvelői régiókban (C₃-C₄).

2) Klinikai humán vizsgálatokat végeztünk, hogy igazoljuk a PACAP specificitását és relevanciáját migrénben.

A PACAP-38-IR-t mértük migrénes betegek perifériás vérplazma mintáiban az iktális és interiktális periódusok idején, egészséges kontroll alanyokhoz hasonlítva.

Vizsgálatuk a betegség klinikai paramétereinek és a plazma CGRP, valamint PACAP-38 koncentráció-változásinak összefüggéseit.

IV. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

1) Preklinikai állatkísérletek

Állatok, etika

Összesen 59 fiatal felnőtt, mindkét nemhez tartozó Sprague-Dawley patkányt (életkor: 8-12 hét, testsúly: 250-350 g) használtunk fel vizsgálatainkban:

- n=28 állat esetében intraperitonealis (i.p.) nitroglicerinjekcióval (NTG-Nitrolingual Pumpspray, Pohl-Boskamp GmbH, Germany, 10 mg/kg dózis) kémilag aktiváltuk a TR-t.
- n=20 állatnál az egyik oldali TRG elektromos stimulálásával indukáltunk TR aktivációt (ES-TRG) (ingerlési idő: 30 min; ingerlés frekvenciája: 10 Hz; az impulzusok időtartama: 5 ms; áramerősség: 1 mA; stimulációs mód: folyamatos).
- n=11 állatot intaktként a kontroll csoportba vontunk be.

Minden vizsgálatot az Állatkísérletek Etikai Kódexének rendeleteivel, törvényeinek irányelveivel összhangban végeztünk.

Modellek

A kísérletekben az állatokat i.p. klorál-hidráttal (0,4 g/kg) altattuk. A kontroll csoportban az altatást követően azonnal, míg a 2 különböző aktivált TR modellben a stimulációt követő 90. vagy 180. percben (NTG adás vagy ES-TRG után) kezdtük meg a CSF- és a vérminta gyűjtését, illetve a szövetek preparálását (TNC, C₃-C₄ és TRG). A liquort (~150 µl/állat) a suboccipitalis cisterna-ból csapoltuk le, a vérmintákat (5 ml/állat) a jobb oldali vena cava-ból véralvadásgátlót (etilén-diamin tetra-ecetsav = EDTA, 12 mg) és

proteáz inhibitor (aprotinin, Gordox, 1200 IU) tartalmazó jéghideg műanyag csövekbe gyűjtöttük. A vérmintákat 4 °C-on tároltuk, majd a plazmát centrifugálással szeparáltuk (5,000 rpm, 10 min, 4 °C). A mintákat -80 °C-on tároltuk a PACAP-38- és PACAP-27-koncentrációinak radioimmunoassay (RIA) módszerrel és tömegspektrométerrel történő meghatározásáig (MS).

A PACAP-38-IR és PACAP-27-IR meghatározása aktivált TR patkány modellekből származó liquor- és vérplazma mintákban, illetve a TR idegi struktúráiban RIA és MS módszerekkel

A CSF és plazma PACAP-27 ("88123-3") és PACAP-38 ("88111-3") koncentrációit specifikus és szenzitív RIA technikával mértük, korábban beállított metodika alapján [18]. A nyúlban termeltetett antiszérumok nagy specificitását és C-terminális érzékenységét keresztreakciós mérésekkel igazolták. Az ismeretlen minták peptid koncentrációit kalibrációs görbe alapján határoztuk meg.

A PACAP-38 és PACAP-27 azonosítását standard oldatokhoz hasonlítva patkány CSF-ben és vérplazmában MS méréssel is elvégeztük (matrix-assisted laser desorption ionization time of flight) (PACAP-38 Na⁺ (MW: 4558.7) és PACAP-27 (MW: 3147.6).

Statisztikai analízis

Az n=11-28 állat eredményeit átlag+S.E.M. formában ábrázoltuk. Az adatokat egyutas varianciaanalízissel (ANOVA) és Tukey's *post-hoc* teszttel elemeztük. A szignifikancia szintet p<0.05 esetében állapítottuk meg.

2) *Klinikai humán vizsgálatok*

Alanyok, etika

Tanulmányunkba 87 migrénes beteget (aurás, aura nélküli) és 40 egészséges kontroll, korban egyeztetett alanyt válogattunk be. A migréneseket a Nemzetközi Fejfájás Társaság 2004-es irányelvei alapján klasszifikáltuk [1]. A betegség jellemzőinek (időtartam, rohamfrekvencia, allodínia, a fájdalom súlyossága, menstruációs ciklus hatása, egyéb, nem-migrénes, krónikus fájdalom megléte, depresszió jelei) feltérképezése és a csoportok homogenizálása céljából részletes kérdőívet vettünk fel a páciensekről. A kontroll csoport egészséges önkéntesei, kezelést igénylő fejfájást nem panasztak.

A vizsgálatok menete

A beavatkozások során – melyeket a Szegedi Tudományegyetem, Orvostudományi Kar, Etikai Bizottsága engedélyezett (87/2009) – vérmintát gyűjtöttünk migrénes betegektől roham alatt és/vagy rohammentes periódusban. A vérvételeket megelőzően megkötéseket nem tettünk (étel/ital-fogyasztás, dohányzás, stb. megengedett volt), kivéve a gyógyszeres rohamterápia, vérvételig történő halasztására vonatkozóan. Ennek eredményeként, 80 interiktális és 28 iktális időszakból gyűjtöttünk mintát, illetve 21 migrénestől mindkét periódusban meg tudtuk határozni a vér peptid tartalmát. A kontroll személyek esetében egyszeri vérvétel történt. A vérmintákat (6 ml/alany) nyugalomban, ülő pozícióban a vena cubitalis-ból nyertük és gyűjtöttük véralvadásgátlót (EDTA, 12 mg) és proteáz gátlót (aprotinin, Gordox, 1200 IU) tartalmazó jéghideg vérvételi csövekbe. A mintákat 4 °C-on tartottuk, majd

centrifugáltuk (2000 rpm, 10 min, 4°C). A plazma mintákat –80 °C-on tároltuk a PACAP-38-IR és CGRP-IR RIA módszerrel történő méréséig.

RIA mérések és adatgyűjtés

A plazma PACAP-38- és CGRP-IR-t, korábban kifejlesztett specifikus és szenzitív RIA módszerrel detektáltuk [18]. A nyúlban termeltetett antiszérumok nagy specificitását és C-terminális érzékenységet keresztreakciós mérésekkel igazolták. Az ismeretlen minták peptid koncentrációit kalibrációs görbe alapján határoztuk meg.

Statisztikai analízis

Néhány kivételtől eltekintve, az eredményeket átlag±SD formában ábrázoltuk. Az adatok normalitását a Shapiro-Wilk teszttel vizsgáltuk. A csoportok összehasonlítását Student's-féle páratlan és páros t-tesztekkel, valamint nonparametrikus, Wilcoxon-teszttel végeztük, SPSS 17.0. statisztikai program segítségével. A menstruációs ciklus, a krónikus fájdalom és a PACAP-38 koncentrációk összefüggéseit multivariancia próbákkal vizsgálatuk (ismételt méréses ANOVA). Az eredményeket $p < 0.05$ esetben fogadtuk el statisztikailag szignifikánsnak.

V. EREDMÉNYEK

1) *Preklinikai állatkísérletek*

1. A PACAP-27/38 koncentrációja növekedett a patkány TNC-jében a TR kémiai (1/A. *ábra*), és elektromos stimulációjának hatására (2/A. *ábra*).

1/A. *ábra*

PACAP-27/38-IR

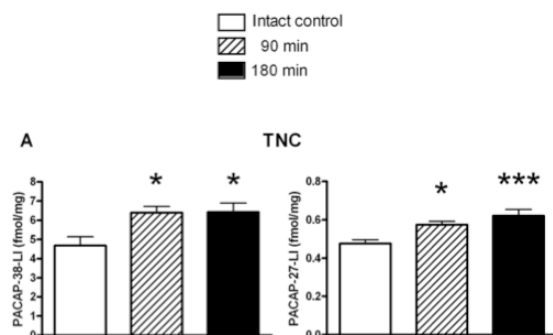
növekedés patkány

TNC-ben

a

nitroglicerín-

modellben (* $p < 0.05$,
*** $p < 0.001$).



2/A. *ábra*

PACAP-27/38-IR

emelkedés patkány

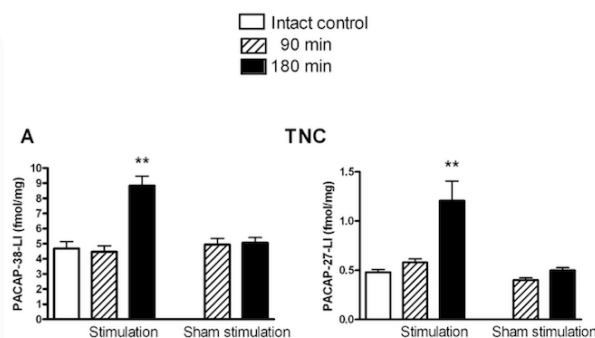
TNC-ben

a

trigeminalis ganglion

elektromos ingerlése-

modellben (** $p < 0.01$).



2. A PACAP-38-IR emelkedett a vénás véráramban a TRG elektromos aktivációja után (3. *ábra*).

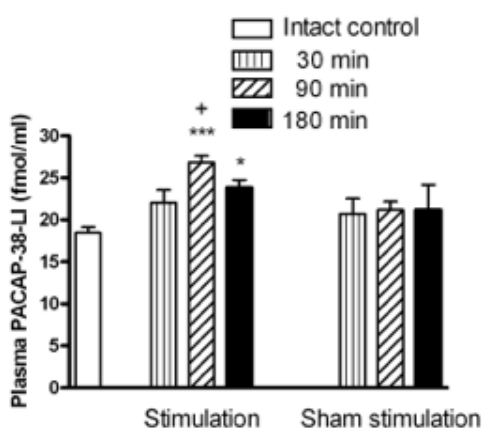
3. *ábra*

Plazma PACAP-38-IR változások

a trigeminalis ganglion

elektromos ingerlése-modellben

(* $p < 0.05$, *** $p < 0.001$).

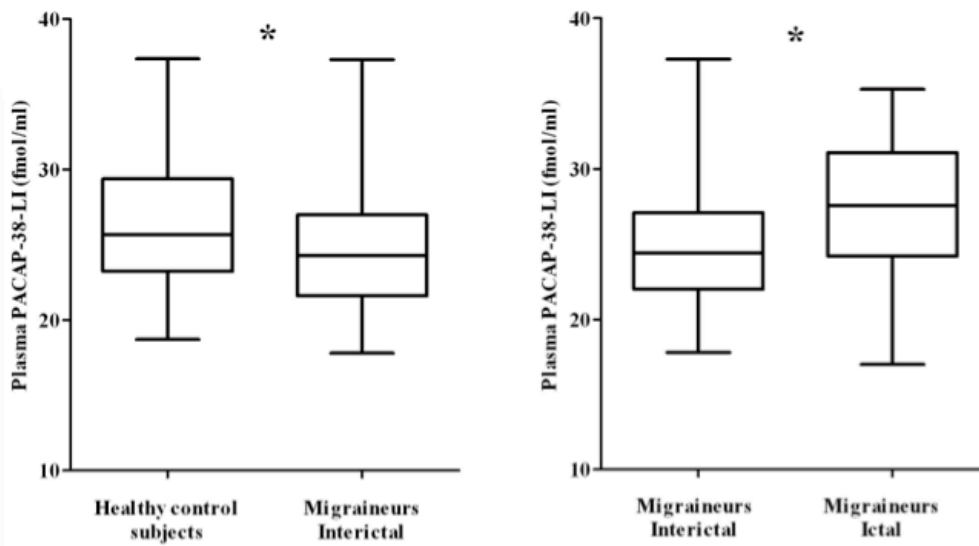


PACAP-27 nem található a plazmában.

Egyik PACAP formát sem tudtuk detektálni a liquorban.

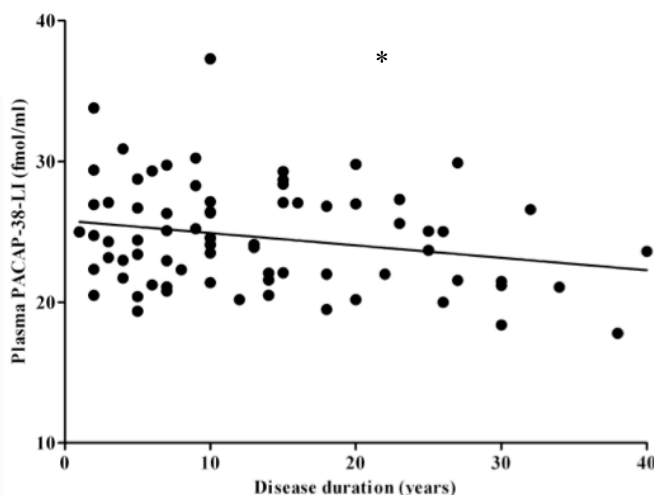
2) Klinikai humán vizsgálatok

3. Szignifikánsan kisebb plazma PACAP-38 koncentrációt mértünk migrénesek interiktális periódusában kontroll alanyokhoz viszonyítva, mely jelentősen megemelkedett (visszatért a kontroll szintre) rohamok idején (4. ábra).



4. ábra PACAP-38-IR változások migrénesek interiktális és iktális periódusaiból származó plazmamintákban, egészséges alanyokkal összehasonlítva (* $p < 0.05$).

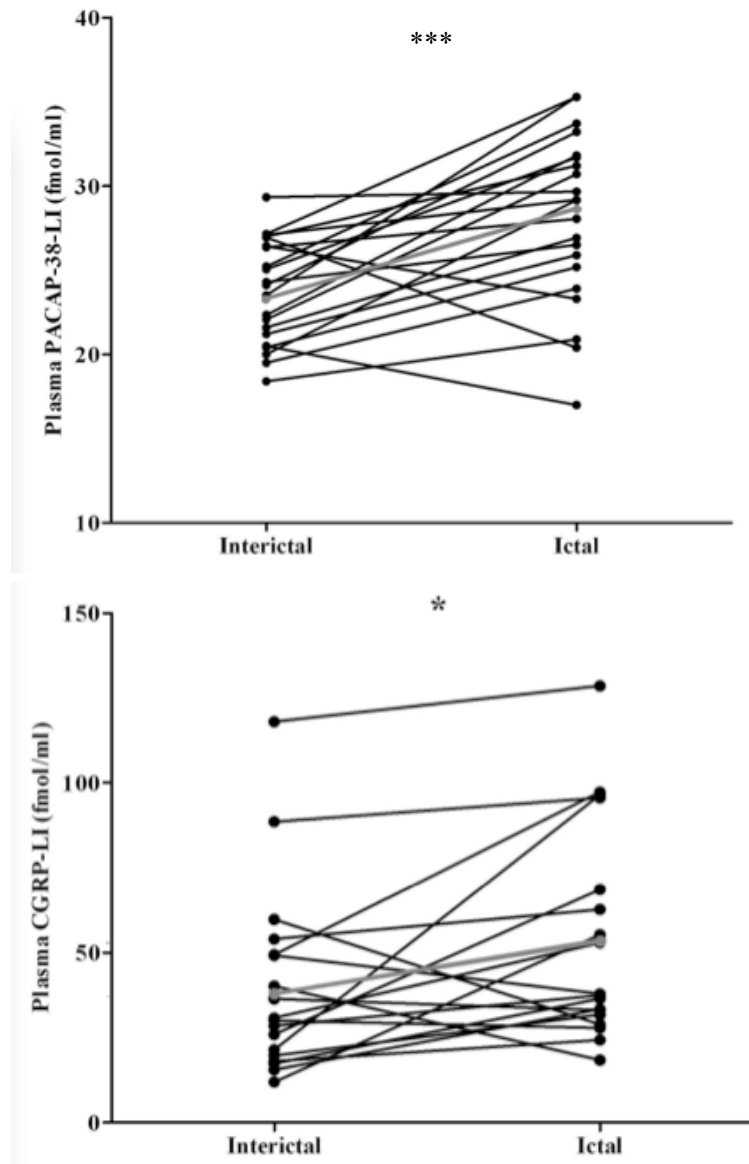
4. Az alacsonyabb interiktális plazma PACAP-38 koncentráció kapcsolatban van a migrén fennállásának időtartamával (5. ábra).



5. ábra

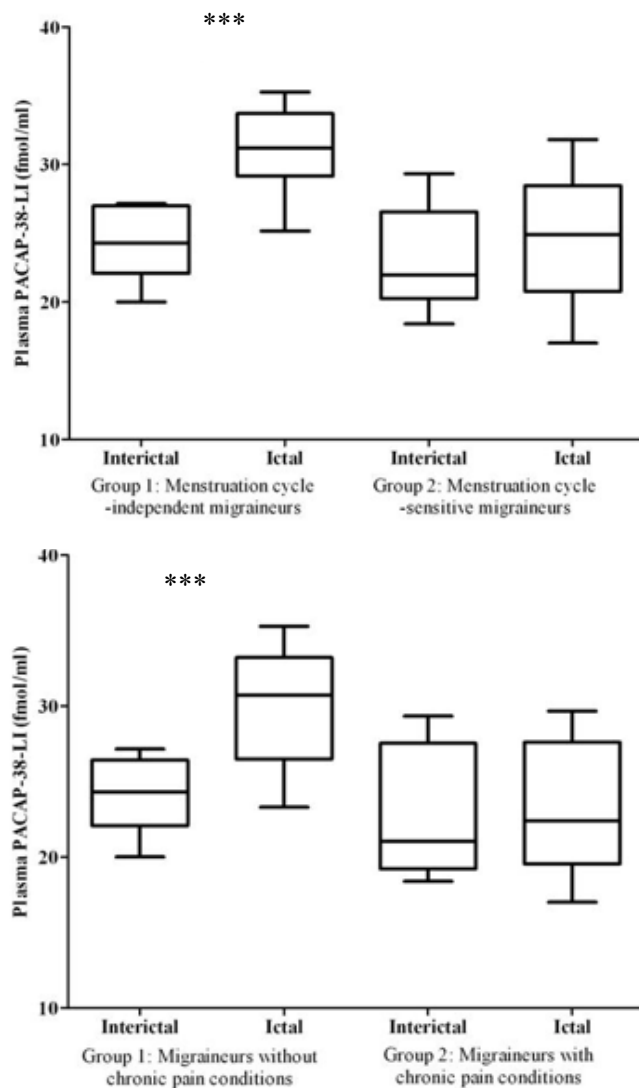
Az interiktális PACAP-38-IR enyhe negatív korrelációt mutat a migrén fennállásának időtartamával (* $p < 0.05$).

5. A migrénes betegekben szignifikánsan magasabb plazma PACAP-38- és CGRP-IR-t detektáltunk iktális időszakban, a rohammentes periódushoz képest (6. ábra).



6. ábra Emelkedett PACAP-38 és CGRP koncentrációk migrénes rohamok idején (iktális fázis) a rohammentes periódushoz képest, 21 “önkontrollós” beteg plazmamintáiban ($***p_{\text{PACAP-38}} < 0.001$; $*p_{\text{CGRP}} < 0.05$).

6. A migrénes betegek 2 alcsoportjának részletes elemzése azt mutatta, hogy a plazma PACAP-38 koncentráció azoknál emelkedik meg jelentősen az iktális időszakban, akiknek a fejfájása nem kapcsolódik a menstruációs ciklushoz, illetve akiket nem érintenek más, krónikus fájdalom szindrómák (hátfájás, lumbago, térd-, bokaízületi porckopás) (7. ábra).



7. ábra
 Szignifikáns különbséget találtunk a plazma PACAP-38-IR-ban az interiktális és iktális fázisok között a migrénesek 1. alcsoportjaiban (menstruációs ciklus-független n=11 és krónikus fájdalom-mentes migrénes betegek n=15) *** $p < 0.001$.

Összefüggést nem találtunk a plazma PACAP-38-IR és az életkor, nem, rohamfrekvencia, allodínia és a VAS-skála között.

VI. MEGBESZÉLÉS

1) *Preklinikai állatkísérletek*

Eredményeink alapján úgy tűnik, hogy a PACAP-nak nagyon fontos szerepe van a TR aktiválódásában (neuropeptid teória). Állatkísérletes modelljeinkben a perifériás és a centrális szenzitizáció mechanizmusait is PACAP-szint változások kísérték, utalva a neuro-vaszkuláris rendszer komplexitására. A kismértékben különböző eredmények a modellek eltérő aktivációs mechanizmusaival magyarázhatók. A szelektív és szignifikáns PACAP-27/38-IR emelkedések arra engednek következtetni, hogy a trigeminalis trigger (NTG, ES-TRG) jelentős peptid-felszabadulást indukál, feltehetőleg a primer szenzoros neuronok perifériás és/vagy centrális terminálisaiból [13]. A TRG elektromos ingerlése jelentős, erőteljes TR aktivációt generál, melynek hatására az idegvégződésekből nagy mennyiségben szabadul fel PACAP. A perivascularis terekből belép a keringési rendszerbe, ezáltal emelkedett koncentrációban detektálható a vérben. A centrális ágakon megjelenő peptid kifejti aktiváló hatásait vaszkuláris [19], neuronális [3, 5] szempontból, valamint hízósejt degranuláló mechanizmusai révén is hozzájárulhat a TR aktivációval kapcsolt migrénes folyamatok kialakulásához [20].

2) *Klinikai humán vizsgálatok*

A humán vizsgálatok eredményei részben igazolni látszanak az állatkísérletekben megfigyelteket. A migrénes betegek vérplazma mintáiban tapasztalt PACAP-38 koncentráció-változások háttérében a fentiekben leírtakhoz hasonló mechanizmusokat feltételezünk: a

trigeminális aktiváción alapuló migrénes rohamok idején nagyobb mennyiségben szabadul fel PACAP-38, és a korábban már igazolt CGRP [21]. A vérkeringésbe jutva szisztémásan megemelkedik mennyiségük, kifejtik vazodilatatív és szenzitizáló hatásukat, melyek hozzájárulnak a fejfájás kifejlődéséhez és súlyosbodásához. Az ok-okozat viszony egyelőre nem tisztázott. A rohammentes periódusban lecsökkent PACAP-38-IR és a betegség ideje közötti enyhe korreláció egyik magyarázata lehet, hogy az iktális időszakokban rendszeresen, nagy mennyiségben szabadul fel a peptid, melynek következtében fokozatosan kimerülnek a PACAP-tartalmú terminálisok. Mindez indirekt összefüggésben lehet az interiktálisan igazolt, cerebrális-neuronális energiaszint-csökkenésekkel [22, 23], degeneratív változásokkal [24]. Továbbá a rohamok alatt emelkedett/normalizálódott PACAP-38-IR-változás migrén specifikus válasznak tűnik, mivel szignifikáns eltérés az inter/iktális periódusok között csak a menstruációs ciklustól független migrénes betegekben, és a krónikus fájdalomtól mentes alanyoknál mutatkozott. Habár a betegek vér-agy gát (BBB) funkcióiról nincs információnk, irodalmi adatok alapján feltételezhető, hogy a migréneseknél megfigyelt BBB integritás-vesztés, permeabilitás emelkedés [25] is befolyásolhatja a PACAP mozgásait, hatásait [10].

VII. KÖVETKEZTETÉS

Eredményeink arra utalnak, hogy a PACAP egy speciális modulátora lehet a TR-nek, melyet preklinikai és klinikai aspektusból is sikerült bizonyítanunk. A szenzitizációs folyamatokban betöltött szerepét a migrénes fázisokhoz kapcsolódó plazma koncentráció-változásai igazolják. Tanulmányunk

hozzájárul a TR mechanizmusainak részletesebb megismeréséhez, és perspektívákat kínál új targetek azonosítására a migrén terápiájában. További kutatások szükségesek a PACAP és a fájdalom/fejfájások vonatkozásában, melyek révén a PACAP egy új biomarkere lehet a migrénnek.

AZ ÉRTEKEZÉS EREDETI MEGÁLLAPÍTÁSAI

Preklinikai állatkísérletes vizsgálatok

1. A patkány trigeminovascularis rendszerének mind kémiai, mind elektromos ingerlésére a PACAP-27/38 koncentrációja szignifikánsan megemelkedett az agytörzsi másodlagos érző neuronok területén (caudalis trigeminalis mag).
2. A trigeminalis ganglion elektromos stimulációja a PACAP-38 koncentráció-emelkedését idézte elő a vénás véráramban, állatmodellben.

Klinikai human vizsgálatok

3. Szignifikánsan alacsonyabbnak mutatkozott a vérplazma PACAP-38 koncentrációja migrénes betegek rohammentes periódusában, egészséges kontroll alanyokhoz képest.
4. A kisebb interiktális plazma PACAP-38 koncentráció összefüggést mutatott a betegség fennállásának idejével.
5. Szignifikánsan magasabb plazma PACAP-38 koncentrációt detektáltunk migrénes betegekben rohamok idején, a rohammentes periódushoz képest.
6. Jelentős plazma PACAP-38 koncentráció-emelkedés azon betegcsoportokban jelentkezett, ahol a fejfájás megjelenése nem függ a menstruációs ciklustól és nincs jelen más krónikus fájdalom (hátfájás, lumbago, térd-, bokaízületi kopások).

VIII. KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS

A vizsgálatokat az MTA-SZTE Idegtudományi Kutatócsoport és az SZTE ÁOK Neurológiai Klinika Fejfájás Kutatócsoportjában végeztük, együttműködésben a PTE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézetével.

Köszönettel tartozom témavezetőmnek *Dr. Tajti Jánosnak* és *Prof. Vécsei Lászlónak* (SZTE ÁOK, Neurológiai Klinika), *Prof. Helyes Zsuzsannának*, *Dr. Markovics Adriennek* (PTE ÁOK, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet), *Prof. Reglődi Dórának* (PTE ÁOK, Anatómia Intézet) és *Prof. Toldi Józsefnek* (SZTE TTIK, Élettani, Szervezettani és Idegtudományi Tanszék) személyes támogatásukért és szakmai útmutatásaikért. Hálás vagyok minden kollégámnak és barátomnak a munkám során nyújtott segítségéért. Köszönöm családomnak és vőlegényemnek a tanulmányaimhoz, tudományos munkámhoz nyújtott támogatásukat és szeretetüket.

PhD képzésemet és a kutatást a Richter Gedeon Nyrt., valamint az alábbi pályázatok támogatták: Nemzeti Kiválóság Program-TÁMOP-4.2.4.A/2-11/1-2012-0001, TÁMOP-4.2.1/B-09/1/KONV-2010-0005, TÁMOP-4.2.1/B-10/2/KONV-2010-0002, TÁMOP-4.2.2/A-11/1/KONV-2012-0024, TÁMOP-4.2.2/A-11/1/KONV-0443534/130, TÁMOP-4.2.2/B-10/1-2010-0029.

IX. IRODALOMJEGYZÉK

1. Lipton, R.B., et al., *Classification of primary headaches*. Neurology, 2004. **63**(3): p. 427-35.
2. Moskowitz, M.A., *Trigeminovascular system*. Cephalalgia, 1992. **12**(3): p. 127.
3. Tajti, J., R. Uddman, and L. Edvinsson, *Neuropeptide localization in the "migraine generator" region of the human brainstem*. Cephalalgia, 2001. **21**(2): p. 96-101.
4. Edvinsson, L. and R. Uddman, *Neurobiology in primary headaches*. Brain Res Brain Res Rev, 2005. **48**(3): p. 438-56.
5. Uddman, R., et al., *Neuropeptide expression in the human trigeminal nucleus caudalis and in the cervical spinal cord C1 and C2*. Cephalalgia, 2002. **22**(2): p. 112-6.
6. Reglodi, D., et al., *Effects of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide in the urinary system, with special emphasis on its protective effects in the kidney*. Neuropeptides, 2011.
7. Borzsei, R., et al., *Presence of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide-38 in human plasma and milk*. Eur J Endocrinol, 2009. **160**(4): p. 561-5.
8. Sherwood, N.M., S.L. Krueckl, and J.E. McRory, *The origin and function of the pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP)/glucagon superfamily*. Endocr Rev, 2000. **21**(6): p. 619-70.
9. Arimura, A., *PACAP: the road to discovery*. Peptides, 2007. **28**(9): p. 1617-9.
10. Vaudry, D., et al., *Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide and its receptors: 20 years after the discovery*. Pharmacol Rev, 2009. **61**(3): p. 283-357.
11. Schytz, H.W., J. Olesen, and M. Ashina, *The PACAP receptor: a novel target for migraine treatment*. Neurotherapeutics, 2010. **7**(2): p. 191-6.
12. Chan, K.Y., et al., *Pharmacological characterization of VIP and PACAP receptors in the human meningeal and coronary artery*. Cephalalgia, 2011. **31**(2): p. 181-9.
13. Helyes, Z., et al., *Inhibitory effect of PACAP-38 on acute neurogenic and non-neurogenic inflammatory processes in the rat*. Peptides, 2007. **28**(9): p. 1847-55.
14. Mabuchi, T., et al., *Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide is required for the development of spinal sensitization and induction of neuropathic pain*. J Neurosci, 2004. **24**(33): p. 7283-91.
15. Tajti, J., et al., *Messenger molecules and receptor mRNA in the human trigeminal ganglion*. J Auton Nerv Syst, 1999. **76**(2-3): p. 176-83.

16. Csati, A., et al., *Distribution of vasoactive intestinal peptide, pituitary adenylate cyclase-activating peptide, nitric oxide synthase, and their receptors in human and rat sphenopalatine ganglion*. Neuroscience, 2012. **202**: p. 158-68.
17. Schytz, H.W., et al., *PACAP38 induces migraine-like attacks in patients with migraine without aura*. Brain, 2009. **132**(Pt 1): p. 16-25.
18. Jakab, B., et al., *Distribution of PACAP-38 in the central nervous system of various species determined by a novel radioimmunoassay*. J Biochem Biophys Methods, 2004. **61**(1-2): p. 189-98.
19. Amin, F.M., et al., *Headache and prolonged dilatation of the middle meningeal artery by PACAP38 in healthy volunteers*. Cephalalgia, 2012. **32**(2): p. 140-9.
20. Baun, M., et al., *Dural mast cell degranulation is a putative mechanism for headache induced by PACAP-38*. Cephalalgia, 2012. **32**(4): p. 337-45.
21. Goadsby, P.J., L. Edvinsson, and R. Ekman, *Vasoactive peptide release in the extracerebral circulation of humans during migraine headache*. Ann Neurol, 1990. **28**(2): p. 183-7.
22. Barbiroli, B., et al., *Abnormal brain and muscle energy metabolism shown by ³¹P magnetic resonance spectroscopy in patients affected by migraine with aura*. Neurology, 1992. **42**(6): p. 1209-14.
23. Welch, K.M. and N.M. Ramadan, *Mitochondria, magnesium and migraine*. J Neurol Sci, 1995. **134**(1-2): p. 9-14.
24. Yilmaz, N., et al., *Elevated S100B and neuron specific enolase levels in patients with migraine-without aura: evidence for neurodegeneration?* Cell Mol Neurobiol, 2011. **31**(4): p. 579-85.
25. Dreier, J.P., et al., *Opening of the blood-brain barrier preceding cortical edema in a severe attack of FHM type II*. Neurology, 2005. **64**(12): p. 2145-7.

X. SCIENTOMETRIAI ADATOK

AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ EREDETI KÖZLEMÉNYEK

Tuka B, Helyes Z, Markovics A, Bagoly T, Szolcsányi J, Szabó N, Tóth E, Kincses ZT, Vécsei L, Tajti J. Alterations in PACAP-38-like immunoreactivity in the plasma during ictal and interictal periods of migraine patients. *Cephalalgia*. 2013;33(13):1085-95. **IF: 3,485**

Tuka B, Helyes Z, Markovics A, Bagoly T, Németh J, Márk L, Brubel R, Reglődi D, Párdutz A, Szolcsányi J, Vécsei L, Tajti J. Peripheral and central alterations of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide-like immunoreactivity in the rat in response to activation of the trigeminovascular system. *Peptides*. 2013;33(2):307-316. **IF:2,522**

AZ ÉRTEKEZÉSHEZ KAPCSOLÓDÓ KÖZLEMÉNYEK

Csati A, Tajti J, **Tuka B**, Edvinsson L, Warfvinge K. Calcitonin gene-related peptide and its receptor components in the human sphenopalatine ganglion -- interaction with the sensory system. *Brain Res*. 2012;1435:29-39. **IF:2,879**

Csati A, Tajti J, Kuris A, **Tuka B**, Edvinsson L, Warfvinge K. Distribution of vasoactive intestinal peptide, pituitary adenylate cyclase-activating peptide, nitric oxide synthase, and their receptors in human and rat sphenopalatine ganglion. *Neuroscience*. 2012;202:158-68. **IF: 3,122**

Markovics A, Kormos V, Gaszner B, Lashgarara A, Szoke E, Sandor K, Szabadfi K, **Tuka B**, Tajti J, Szolcsanyi J, Pinter E, Hashimoto H, Kun J, Reglodi D, Helyes Z. Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide plays a key role in nitroglycerol-induced trigeminovascular activation in mice. *Neurobiol Dis*. 2012;45(1):633-44. **IF: 5,403**

Az értekezéssel kapcsolatos közlemények össz. impakt faktora: 17.411

Független hivatkozásainak száma: 17

Σ Közlemények: 11

Σ Előadások (szóbeli, poszter): 22

Az összes közlemény impakt faktora: 32.113

Összes citáció: 69

Összes független citáció: 44

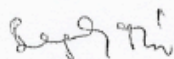
H-index: 5

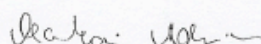
NYILATKOZAT

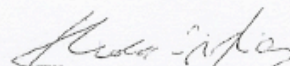
Kijelentjük, hogy Tuka Bernadett munkája meghatározó jelentőségű az alábbi, Doktori (PhD) Értekezése és Tézisei alapjául szolgáló közleményekben, melyeket mindeddig nem használtuk fel tudományos fokozat megszerzésére, mint ahogyan azt a jövőben sem fogjuk megtenni.


Tuka B, Helyes Z, Markovics A, Bagoly T, Szolcsányi J, Szabó N, Tóth E, Kincses ZT, Vécsei L, Tajti J. Alterations in PACAP-38-like immunoreactivity in the plasma during ictal and interictal periods of migraine patients. *Cephalalgia*. 2013 Oct;33(13):1085-95.
IF: 3,485

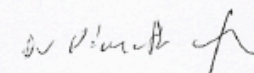
Tuka B, Helyes Z, Markovics A, Bagoly T, Németh J, Márk L, Brubel R, Reglődi D, Párdutz A, Szolcsányi J, Vécsei L, Tajti J. Peripheral and central alterations of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide-like immunoreactivity in the rat in response to activation of the trigeminovascular system. *Peptides*. 2012 Feb;33(2):307-316.
IF:2,522


Bagoly Teréz

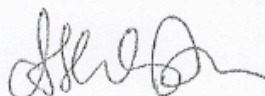

Markovics Adrienn


Szolcsányi János


Brubel Réka



Németh József

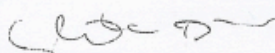

Tajti János

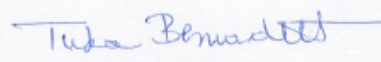

Helyes Zsuzsanna



Párdutz Árpád


Tóth Eszter


Kincses Zsigmond Tamás


Reglődi Dóra


Tuka Bernadett


Márk László


Szabó Nikoletta


Vécsei László

Szeged, 2013. 11. 18.